

BEST AVAILABLE COPY

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2002-267667

(43)Date of publication of application : 18.09.2002

(51)Int.Cl.

G01N 33/53
C12M 1/00
C12N 15/09
G01N 33/566
G01N 37/00

(21)Application number : 2001-064918

(71)Applicant : HITACHI SOFTWARE ENG CO LTD

(22)Date of filing : 08.03.2001

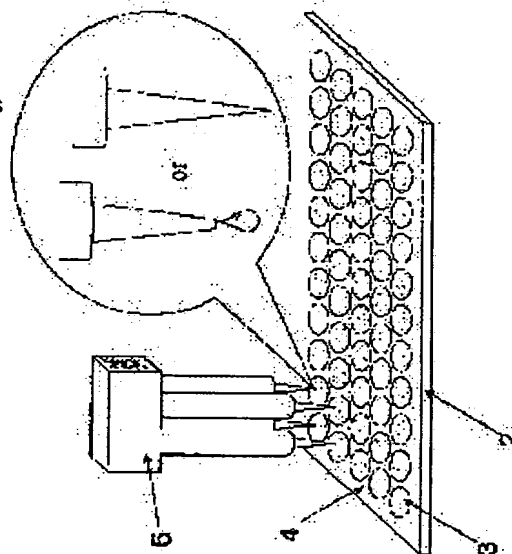
(72)Inventor : SATO KEIICHI
MORITA TOSHIKI

(54) MICROARRAY AND SUBSTRATE FOR THE SAME

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a microarray on which the spot shape of a probe DNA to be immobilized can be formed simply and surely in a desired shape.

SOLUTION: The microarray 2 which uses a slide glass as a substrate is provided with hydrophilic regions 3 whose surface is hydrophilic and to which the probe DNA is immobilized and a hydrophobic region 4 to which the probe DNA around them is not immobilized and whose surface is hydrophobic. When a solution containing the probe DNA is dropped by a spotter 5, the solution is spread to the hydrophilic region 3, and it is restrained from being spread further by the hydrophilic region 4. As a result, the shape of spots as the hydrophilic regions 3 can be decided arbitrarily.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

【特許請求の範囲】

【請求項1】 その表面に、プローブ生体高分子が固定されている親水性領域と、その周りのプローブ生体高分子が固定されていない疎水性領域とを備えることを特徴とするマイクロアレイ。

【請求項2】 前記親水性領域は、円形であることを特徴とする請求項1に記載のマイクロアレイ。

【請求項3】 前記親水性領域は、ほぼ四角形であることを特徴とする請求項1に記載のマイクロアレイ。

【請求項4】 前記親水性領域の表面には生体高分子の固定化剤が形成されていて、その周りの疎水性領域の表面には前記固定化剤が形成されていないことを特徴とする請求項1乃至3のいずれかに記載のマイクロアレイ。

【請求項5】 その表面に、プローブ生体高分子が固定される親水性領域と、その周りのプローブ生体高分子が固定されない疎水性領域とを備えることを特徴とするマイクロアレイ用基板。

【請求項6】 その表面に、生体高分子の固定化剤が形成されている親水性領域と、その周りの前記固定化剤が形成されていない疎水性領域とを備えることを特徴とするマイクロアレイ用基板。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、サンプル生体高分子とプローブ生体高分子とのハイブリダイゼーション反応を利用してサンプル生体高分子に目的とする配列が存在するか否かを分析するためのマイクロアレイ及びマイクロアレイ用基板に関する。

【0002】

【従来の技術】従来から、生体内の分子を同定・分画するために、特に目的DNAの検出、あるいは遺伝子DNAの有無検出などのために、既知の配列をもつ核酸や蛋白質をプローブとして蛍光物質で標識したサンプルDNA（一般的にはサンプル生体高分子）とハイブリダイズさせる方法が多く用いられている。具体的には、スライドガラス上にプローブDNA（一般的にはプローブ生体高分子）を固定した、DNAチップ（一般的にはマイクロアレイ）を用いて行う。まずプローブDNAを固定したスライドガラスの上に、蛍光物質を標識したサンプルDNAを含む溶液を滴下し、つぎにその上にカバーガラスをかぶせてハイブリダイズさせて、サンプルDNAがプローブDNAに結合すると、サンプルDNAはプローブDNAと一緒に固定されるので、スライドガラスを洗浄した後に、固定されたサンプルDNAに標識されている蛍光物質を光源からの励起光で励起し、発光する蛍光を検出することでハイブリダイズしたサンプルDNAを検出することができる。

【0003】このDNAチップは次のように作成する。

(1).スライドガラスの表面に、ポリマーレジンのなどの固定化剤を塗布する。

(2).微細に加工したピンを有するスプッターを用いて所定のレイアウトでスポット状にプローブDNAを含む溶液を滴下し、プローブDNAを固定する。

この外に、インクジェット方式やノズル方式、また、表面を加工したスライドガラスを用いる方式などもある。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】従来技術のように、単にプローブDNAを含む溶液を滴下すると、スポットの形状が歪んだ円形になってしまう。このため、隣接するスポット間にそれぞれのプローブDNAが混合してしまわないようにある程度の余裕を持って間隔をあげなければならない。また、スポットの形状が円形である保証がないので検出はスポットの中央の狭い一部で行われることになる。また、表面を加工したスライドガラスを用いる場合には、ガラス自体を加工する作業をする手間がかかる。

【0005】本発明は、上記問題点を鑑み、固定するプローブDNAのスポット形状を簡単かつ確実に所望の形状にすることができるマイクロアレイ及びマイクロアレイ用基板を提供することを目的とする。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明のマイクロアレイは、その表面に、プローブ生体高分子が固定されている親水性領域と、その周りのプローブ生体高分子が固定されていない疎水性領域とを備える。また、前記親水性領域は、円形であることで、安定したスポット形状を得ることができる。

【0007】また、前記親水性領域は、ほぼ四角形であることで、マイクロアレイ上の検出に有効な利用面積が広くなると共に、形状を四角形にすることで、形状を円形とした場合と比較して、反応後の解析作業を行う上で都合がよい。また、前記親水性領域の表面には生体高分子の固定化剤が形成されていて、その周りの疎水性領域の表面には前記固定化剤が形成されていないことで、プローブ生体高分子が固定される領域をより一層確実に所望の形状にすることができる。また、本発明のマイクロアレイ用基板は、その表面に、プローブ生体高分子が固定される親水性領域と、その周りのプローブ生体高分子が固定されない疎水性領域とを備える。また、本発明のマイクロアレイ用基板は、その表面に、生体高分子の固定化剤が形成されている親水性領域と、その周りの前記固定化剤が形成されていない疎水性領域とを備える。

【0008】

【発明の実施の形態】以下、添付図面を参照しながら本発明の好適な実施の形態について詳細に説明する。

【0009】図1は、本発明の実施の形態に係るマイクロアレイの構成を示す図である。スライドガラスを基板とするマイクロアレイ2は、表面が親水性でプローブDNAが固定されている親水性領域3と、その周りのプローブDNAが固定されず表面が疎水性である疎水

性領域 4 とを有する。このように、マイクロアレイ 2 の表面に選択的に親水性領域 3 と疎水性領域 4 とを設けて、親水性領域 3 にプローブ DNA を固定する。このため、スポッター 5 によってプローブ DNA を含む溶液を滴下すると、該溶液は親水性領域 3 に広がって、疎水性領域 4 によってさらに広がることは抑制される。この結果、親水性領域 3 であるスポットの形状を任意に決めることができる。例えば、通常の円形にする場合でも真円に近いものとすることができるし、ほぼ四角形とする 것도できる。形状については、ほとんど拘束条件はない。四角形とすることで検出領域を広くして検出に利用されない遊び面積を小さくすることができる。円形とする場合でもその大きさを任意の所定の大きさに正確に設定することができるので、従来よりもスポット間の間隔を短くすることができる。また、形状が真円に近いことが分かっているので、検出する領域も円周の縁の近くまでの広い領域とすることができる。これは、逆にいうと、スポットの形状を小さくして、かつ、間隔を詰めることで多くのスポットを設けることができることになる。また、スポッター 5 の構成についても、滴下した溶液の広がる形状を特定のものにするための特殊な構造にする必要がないため、単に滴下する溶液の量を制御できるだけでよく、簡単な構造にすることができる。

【0010】図 2 は、本発明の実施の形態に係るマイクロアレイの製造方法を説明する図である。ここでは、通常のスライドガラスに光触媒技術により所定の領域に選択的に親水性を付与してマイクロアレイ 2 とするものを説明する。

(1). マイクロアレイ 2 となる基板であるスライドガラスの表面全体に光触媒性半導体材料を含む薄膜を形成する。光触媒性半導体材料は、 TiO_2 、 ZnO 、 SnO_2 、 SrTiO_3 、 WO_3 、 Bi_2O_3 、 Fe_2O_3 からなる群から選ばれたものである（さらに詳細には、特許第 2756474 号公報参照）。

(2). 親水性領域 3 に相当する領域で選択的に紫外線を透過するマスク 1（親水性領域 3 に対応する位置に穴が貫通するように形成されたマスク）を介してマイクロアレイ 2 に紫外線を照射して、形成されている光触媒性半導体材料の薄膜における親水性領域 3 に紫外線を照射することで、親水性領域 3 に形成されている光触媒性半導体

材料の薄膜を親水性に変える。

(3). 親水性領域 3 にプローブ DNA を固定する。

なお、本発明は上記実施の形態に限定されるものではない。

【0011】親水性を付与するのに光触媒性半導体材料を用いるのではなく、親水性の塗料を塗布することでもよい。マイクロアレイ用基板の基材は、ガラス製に限られない。その表面に親水性領域と疎水性領域を形成することができるものであれば何でもよい。例えば、プラスチック、金属などでもよく、生化学活性のないものであれば、さらによい。

【0012】上述の図面では、マイクロアレイの親水性領域の他のすべての領域を疎水性領域にしているが、親水性領域の周りを疎水性領域とすれば残りのすべての領域を疎水性領域とする必要はない。

【0013】プローブ DNA を固定するに際し、先に基板の表面に固定化剤を形成してからプローブ DNA を含む溶液を滴下してプローブ DNA を固定してもよいし、固定化剤とプローブ DNA の両方を含む溶液を滴下してプローブ DNA を固定してもよい。これらの場合はいずれにしても親水性領域 3 に選択的にプローブ DNA が固定される。

【0014】

【発明の効果】以上のように、本発明によれば、マイクロアレイの基板に固定するプローブ DNA のスポット形状を簡単かつ確実に所望の形状にすることができる。このため、マイクロアレイ上に固定されるプローブ DNA のスポットの数を多くすることができるとともに、スポッターの構造を簡単なものにすることができる。

【図面の簡単な説明】

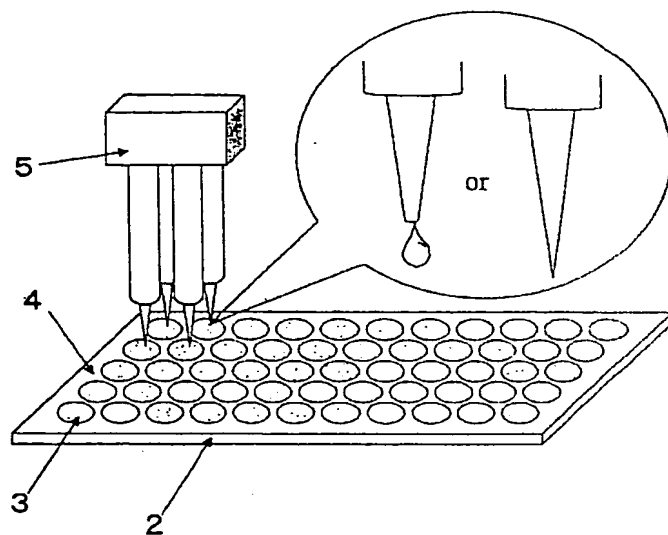
【図 1】本発明の実施の形態に係るマイクロアレイの構成を示す図である。

【図 2】本発明の実施の形態に係るマイクロアレイの製造方法を説明する図である。

【符号の説明】

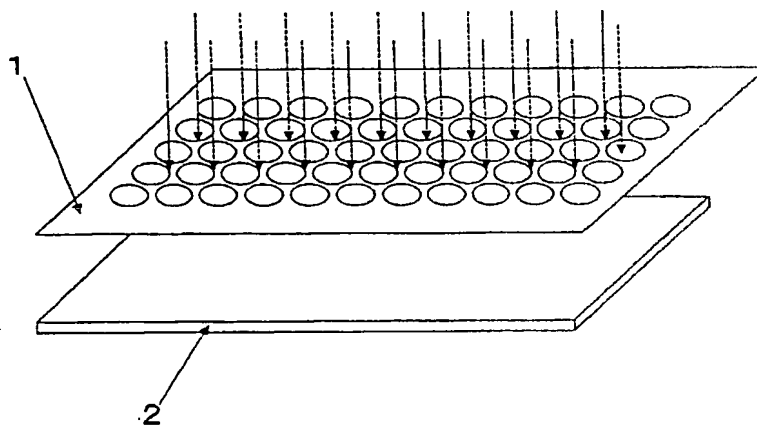
- 1 マスク
- 2 マイクロアレイ
- 3 親水性領域
- 4 疎水性領域
- 5 スポッター

【図1】



【図2】

紫外線等



フロントページの続き

(72) 発明者 森田 敏樹
 神奈川県横浜市中区尾上町6丁目81番地
 日立ソフトウェアエンジニアリング株式会
 社内

Fターム(参考) 4B024 AA11 CA09 HA14
 4B029 AA21 AA23 BB20 CC03 CC08